

大螟雄蛾触角对性外激素及其类似物的电生理反应

伍 德 明 崔 君 荣

(中国科学院动物研究所)

摘要 电生理试验显示出: 大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 雄蛾触角对 ZH-16:Ac (A), ZH-16:OH (B) 激起强烈的触角电位 (EAG) 反应, ZH-16:ALD (C), EH-16:Ac (D), Z9-14:Ac (E) 和 Z7-12:Ac (F) 四种化合物也能激起较强的 EAG 反应; A 化合物的刺激阈比 B 高, 此两种化合物 5:5 比例时, 激起的反应最强烈。电生理的试验推测, 雄蛾触角对 A 和 B 两种化合物的感受, 是通过触角内两种不同类型的嗅觉感受器。A 和 B 不同比例混合后, 田间诱蛾试验证明: 在 9:1, 8:2, 5:5 的比例时, 其诱蛾量远远超过单独的 A 化合物; E 加入 A 与 B 的混合物中, 起抑制诱蛾的效果, 上述试验表明, ZH-16:OH 是大螟的性诱剂。

关键词 大螟 触角电位 性外激素 嗅觉感受器

电生理学的 EAG 技术, 对于研究昆虫对化学气味的感受, 有着非常重要的作用; 在昆虫性外激素的结构鉴定中, 此项技术有两种应用方式, 其一是用作监测有无活性的一种手段 (Nesbitt 等, 1980), 其二是从大量标样化合物中, 确定昆虫性外激素的候选化合物, 结合田间试验确定性诱剂, 从而在天然提取物中为鉴定性外激素提供线索, 直至鉴定出该虫种的性外激素 (Roelofs 等, 1971; 伍德明等, 1984)。

大螟 *Sesamia inferens* (Walker) 是我国水稻的重大害虫之一; 同时, 在甘蔗产区, 大螟又是重要的甘蔗螟虫。此种害虫, 使蔗苗和稻苗造成枯心, 减少有效茎, 严重影响甘蔗和水稻产量。已鉴定出大螟性外激素成分为单一的化合物 ZH-16:Ac (Nesbitt 等, 1976), 但未报道其田间诱蛾活性。1981 年以后, 作者用大螟雄蛾触角做电生理试验, 发现 ZH-16:OH 是大螟性外激素的候选化合物, 田间试验也证实, 此化合物加入 ZH-16:Ac 中, 具有非常明显的增效效果。

材 料 和 方 法

一、昆虫 供试昆虫是将广东省顺德县田间采集的大螟蛹, 寄到北京, 然后放在具有湿润沙土的玻璃养虫缸内, 室温保持 22—26℃, 在室内自然光照下, 蛹羽化, 成虫次日供做 EAG 试验。

二、电生理 EAG 测试方法同 Payne (1975)、Roelofs 等 (1971)、伍德明等 (1982) 所描述相似, 银—氯化银玻璃毛细管电极用 3mol/L KCl 生理溶液充满。记录电极通过

本文于 1984 年 11 月收到。

田间试验得到黄可立的帮助, 谨此致谢。

生理溶液与触角鞭节接通,参考电极与触角基节接通,触角所产生的 EAG 信号经 MZ-4 型微电极放大器在 SBR-1 型示波器上显示出,示波器上的信号用 B-408 型示波器照相机拍照下来。

试验中所用 Zll-16:Ac 及有关化合物,首先用气相色谱 (OV-101 填充柱) 定准量,然后用分析纯的正己烷稀释成微克/微升或毫微克/微升,将这些稀释的化合物用微量注射器吸取一定量,滴在滤纸片上(1×1.5 厘米),从而使每一滤纸片上含一系列气味浓度,溶剂挥发后,将其放入似子弹头状的玻璃管内(粗端和细端的内径分别为 0.8 厘米和 0.3 厘米,长为 5 厘米),此管粗端与玻璃注射器相连接,细端通过聚四氟乙烯管与吹向触角的三通玻璃管相连接。为防止注射器被气味污染,每一刺激前,将子弹头状玻璃管去掉再吸气。由微型压力泵送来的天然气体气流,经活性炭、变色硅胶、分子筛 (5A) 净化后,以 600 毫升/分的速度经过水后流经触角。从手动玻璃注射器发送 1 毫升的气体吹向贮样管的滤纸,使之含有气味的气流进入气流,从而给予嗅觉刺激。用手动注射器突然喷出的时间近一秒,气味气体出口与触角的水平距离为 1.5 厘米。用触角作不同感受器对气味的感受试验时,只是在三通玻璃管前加一只玻璃管,以便放含有 Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH (均为 10 微克) 的滤纸片。此滤纸片一直用气流吹,使触角总嗅到化学气味,从而使触角惯化,检查其惯化程度时,是用同种气味 (10 微克量) 刺激同一根触角,每隔 20 秒钟刺激一次,直至观察到触角的反应振幅接近 0.1 毫伏 (为空白试验振幅)。试验装置如图 1 所示:

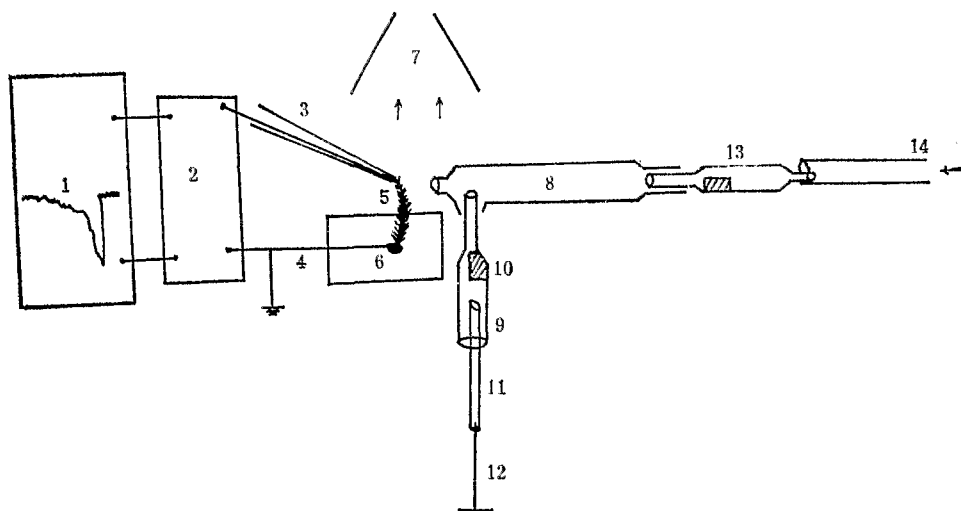


图 1 不同嗅觉感受器的测量装置

1. 示波器 2. 放大器 3. 记录电报 4. 参考电极 5. 触角 6. 蜡盘 7. 通风 8. 三通管
9. 13. 贮样管 10. 化合物的滤纸 11. 聚四氟乙烯管 12. 注射器 14. 过滤空气

做电生理试验时,化合物对触角的刺激顺序是从低浓度到高浓度,彼此检测时间间隔为 15 秒钟,试验过程中,反应强烈的化合物,总是激起强烈的反应,但是对同一根触角来说,由于随着时间的加长及刺激次数的增多,触角反应能力越来越低,同时,不同大螟个体

的触角,对同一化合物激起的 EAG 振幅亦有差异,因此,试验中选用 Z11-16:Ac (10 微克) 的反应振幅(毫伏)为 100%,其他化合物及其他浓度的反应振幅换算成它的百分数(%),所用数据为 9 头雄蛾触角重复三次试验的反应平均值。

三、田间诱蛾试验 试验是在广东省顺德县稻田和浙江省温岭县甘蔗田中进行,诱捕器采用水盆式,水内放少量洗衣粉。诱捕器直接放于地面并成行排列,间距 15 米;而且每一处理随机放在各行中并设三个重复。试验过程中,经常注意在诱捕器内加水或排除因降雨积蓄的多余水,以保持诱捕器内经常保持九分满的水。用于田间试验的化合物用正己烷稀释后,取 300 微克量滴于翻口橡皮塞凹处,此橡皮塞固定在诱捕器上方 1.5 厘米处,同时,要使其凹处向下,以防夜间露水和降雨使其内存水,妨碍性外激素气味的挥发而影响诱蛾效果。为了便于掌握试验情况,每日检查并记录诱捕器内诱到的雄蛾数量,并把诱到的雄蛾从诱捕器内取出。

结果和讨论

一、雄蛾触角的电生理反应

1. 对 Z11-16:Ac 及其有关化合物的反应 其反应如图 2 所示:

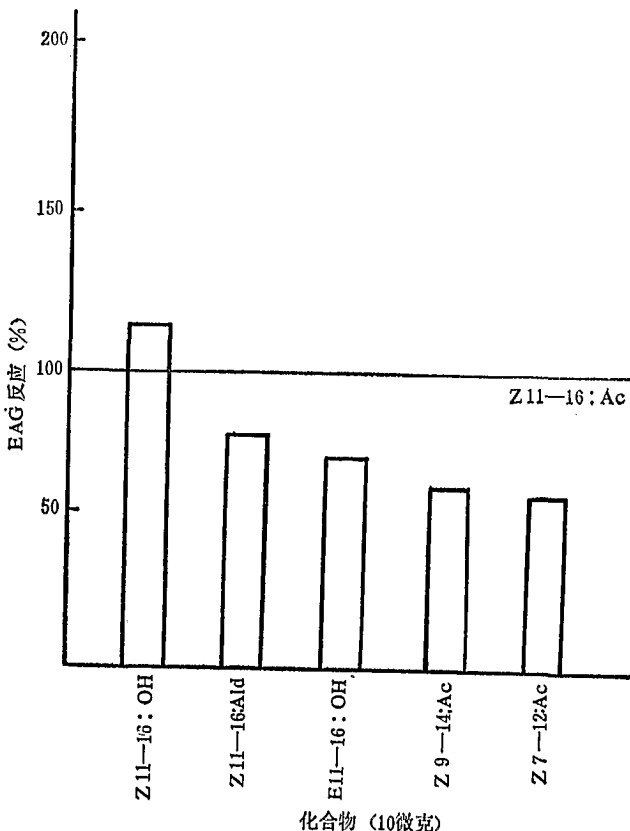


图 2 大螟雄蛾触角对 Z11-16:Ac 及有关化合物的 EAG 反应

从图 2 中看出,大螟的性外激素 Zll-16:Ac 激起强烈的 EAG 反应,然而, Zll-16:OH 激起的反应更强烈(115%), Zll-16:Ac 的官能团异构体 Zll-16:Ald、几何异构体 Ell-16:Ac、W 双键位置异构体 Z9-14:Ac 和 Z7-12:Ac 也能激起较强的 EAG 反应(75%, 78%, 65%, 60%),这样的结果与条螟 *Proceras venosatus* 雄蛾触角的反应相似(伍德明, 1982),因此,从电生理的角度分析, Zll-16:OH 可能是大螟的性外激素成分。

2. Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 的不同浓度 EAG 反应 上述试验结果推断 Zll-16:OH 可能是大螟性外激素成分,前人的工作证明(Jacobson, 1974),昆虫的性外激素在低浓度下,则能激起较强的 EAG 反应,刺激阈值低;而刺激剂仅在高浓度下才有 EAG 反应,刺激阈值高。为了证实 Zll-16:OH 是否与 Zll-16:Ac 同样有较低的刺激阈值,我们将此两种化合物配制成不同浓度后,作了触角感受器感受阈值的试验,其结果如图 3。试验中

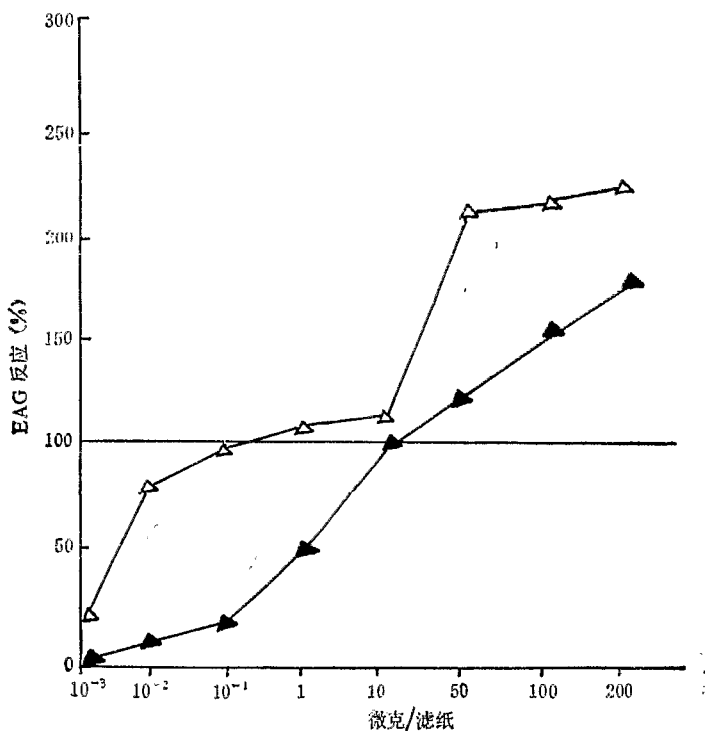


图 3 大螟雄蛾触角对 Zll-16:Ac (▲-▲-▲) 和 Zll-16:OH (△-△-△) 不同浓度的反应

共用了 6 头雄蛾触角。从图中可以明显地看出, Zll-16:OH 比 Zll-16:Ac 的刺激阈值低,也即在含量为 10⁻³ 微克时, Zll-16:OH 则可激起 15% 的 EAG 反应,而 Zll-16:Ac 则无 EAG 反应,从而可看出, Zll-16:OH 的刺激阈值低于 Zll-16:Ac,同时也可以看出, Zll-16:OH 的含量在 10⁻² 微克至 10 微克时, EAG 反应强度上升很慢,但至 50 微克量时,则比 10 微克量的强度高出 1.36 倍,而 100 微克量后,基本上已达饱和状态。然而, Zll-16:Ac 从含量低至含量高时, EAG 反应的强度基本上是直线上升,这样的结果,可能是由于大螟雄蛾触角内,感受 Zll-16:OH 的感受器数量少的缘故,当然,这一推

断,还有待对触角的进一步研究证实。

3. Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 不同比例混合后的 EAG 反应 为了为田间诱蛾试验提供依据,将 Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 不同比例混合后(10 微克),做 EAG 试验,试验结果如图 4。

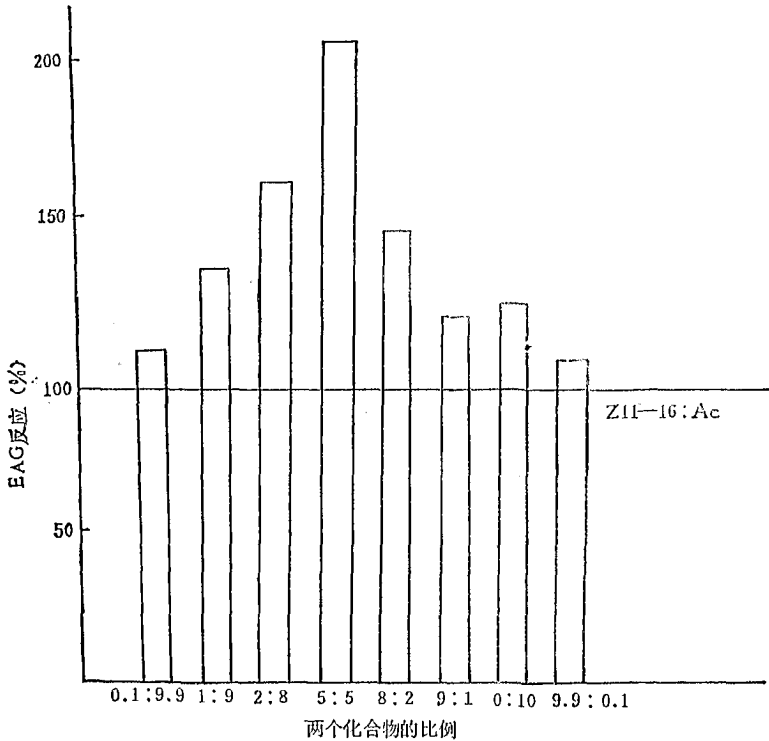


图 4 Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 不同比例混合后的 EAG 反应

从图 4 中可以看出, A 和 B 两种化合物以 5:5 比例激起的 EAG 反应最强烈(最高可达 5.2 毫伏),其他任何比例,反应都较低,但仍比单独的 Zll-16:Ac 激起的反应强烈。这样的结果,推测大螟雄蛾触角内,不但具有感受 Zll-16:Ac 气味分子的感受器,同时,也含有感受 Zll-16:OH 气味分子的感受器。Schneider(1969)指出,触角电位反应是所有感受器反应的总和。因此,触角内两种感受器同时接受气味分子所激起的反应,势必比一种感受器激起的反应强烈。

4. 对 Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 作用感受器 为了证实 Zll-16:Ac 和 Zll-16:OH 在大螟雄蛾触角内,是被两种不同感受器接受,又做了如下试验,首先用含 10 微克 Zll-16:Ac 滤纸片,不间断地刺激触角,并另用含 10 微克的此化合物每隔 20 秒钟刺激一次,待触角反应振幅接近空白对照 0.1 毫伏(图 5:a),立即换含 Zll-16:OH (10 微克)的滤纸片刺激,这时可见触角对此化合物的反应振幅为 1.6 毫伏(图 5:b)。同样,用 Zll-16:OH 不间断刺激触角,用含 Zll-16:OH 的滤纸片每隔 20 秒钟刺激触角一次,使触角反应的振幅为 0.1 毫伏(图 5:c),则间断刺激改为 Zll-16:Ac,这时的反应为 1.2 毫伏(图 5:d)。从而看出,大螟雄蛾触角内,至少有两种类型的感受器,它们具有感受气味的专一性,一种感

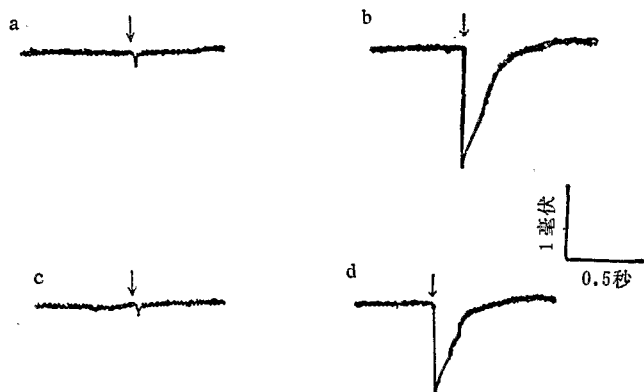


图 5 不同感受器对 Z11-16:Ac 和 Z11-16:OH 的 EAG 反应

受器专门感受 Z11-16:Ac 气味分子;一种专门感受 Z11-16:OH 气味分子。

二、田间诱蛾试验

室内用电生理方法推断出大螟的性外激素候选化合物——Z11-16:OH, 与 Z11-16:Ac 不同比例混合, 有的组分中也添加了 Z9-14:Ac 做了田间诱蛾试验, 试验结果如表 1, 从表 1 中可以看出, 当 Z11-16:Ac 和 Z11-16:OH 在 8:2 比例混合时, 诱蛾活性最高(457 头),

表 1 大螟性外激素及有关化合物的田间诱蛾活性(广东顺德)*

Z11-16:Ac : Z11-16:OH + Z9-14:Ac	诱 蛾 量 (头)
9:1	423
8:2	457
5:5	134
8:2 20 微克	374
5:5 20 微克	82
2:8	50
2:8 20 微克	19
10:0	0

* 1981 年 7 月 24—27 日诱蛾量

9:1 比例混合时, 与其诱蛾效果相当。但是, 室内 EAG 反应最强烈 5:5 比例, 诱蛾效果却较差(134 头), 随着 Z11-16:Ac 在混合物中的比例减少, 诱蛾活性越低。当在混合物中加入 Z9-14:Ac 后, 有抑制诱蛾的效果, 单独的 Z11-16:Ac 却不表现诱蛾活性。从这一角度出发, 田间诱蛾试验和 EAG 的结果是一致的, 即大螟性外激素成分中, 不能缺少 Z11-16:OH, 否则活性则很低。从化学结构上看, Z11-16:OH 和 Z11-16:Ac 相比, 仅是改变了含氧的官能团, 这一点, 也符合夜蛾科性外激素各组分之间, 存在着单一变化的规律 (Steck 等 1982)。然而, 室内电生理试验中, 引起强烈 EAG 反应的 5:5 混合物, 在田间诱蛾试验中, 其效果却低于 8:2 的混合物, 这是由于在室内的电生理试验中, 气味所给予触角刺激方式, 与田间成虫触角接受气味刺激不同, 因此, 电生理的 EAG 技术, 仅能提

供田间诱蛾试验的一定线索(伍德明, 1982)。

参 考 文 献

- 伍德明 1982 触角电位技术与昆虫性信息素。森林病虫通讯 2: 29—31。
- 伍德明等 1982 甘蔗条螟雌蛾性引诱外激素的触角电位分析及田间诱蛾效果。昆虫学报 25 (4): 358—62。
- 伍德明等 1984 二点螟性外激素的化学结构及田间诱蛾效果。昆虫学报 27 (4): 368—74。
- Jacobson, M. 1974 Insect sex pheromones. In: The Physiology of Insecta, Vol. 3, 2nd. Morris Rockstein, Ed. Academic, New York, PP. 229—76.
- Nesbitt, B. F., P. S. Beevor, D. R. Hall, R. Lester and J. R. Williams, 1980 Components of the sex pheromone of the female sugar cane borer, *Cnilo saccnariphagus* (Lepidoptera: Pyralidae): identification and field trials. *J. Chem. Ecol.* 6: 385—94.
- Nesbitt, B. F., P. S. Beevor, D. R. Hall, R. Lester, and V. A. Dyck, 1976 Identification of the female sex pheromone of the purple stem borer moth *Sesamia inferens*. *Insect Biochem.* 6: 105—7.
- Payne, T. L. 1975 Bark beetle olfaction III. Antennal olfactory responsiveness of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae) to aggregation pheromones and host tree terpene hydrocarbons. *J. Chem. Ecol.* 1: 233—42.
- Roelofs, W. L., and A. Comeau 1971 Sex pheromone perception: Electroantennogram responses of the red-banded leafroller moth. *J. Insect physiol.* 17: 1969—82.
- Steck, W., E. W. Underhill, and M. D. Chisholm, 1982 Structure-activity relationships in sex attractants for north american noctuid moths. *J. Chem. Ecol.* 8: 731—54.
- Schneider, D. 1969 Insect olfaction: Deciphering system for chemical messages. *Science (Wash)* 163: 1031—37.

ELECTROPHYSIOLOGICAL RESPONSES OF THE PURPLE STEM BORER TO SEX PHEROMONE AND RELATED COMPOUNDS

WU DE-MING CUI JUN-RONG

(Institute of Zoology, Academia Sinica)

Electrophysiological investigations showed that the male antennae of purple stem borer moth (*Sesamia inferens*) produced high electroantennogram (EAG) responses to Z11-hexadecenyl acetate (Z11-16:Ac) and Z11-hexadecenol (Z11-16:OH) while Z11-hexadecenal (Z11-16:Ald), E11-hexadecenyl acetate, Z9-tetradecenyl acetate (Z9-14:Ac) and Z7-dodecenyl acetate (Z7-12:Ac) would induce lower EAG responses as compared with Z11-16:Ac and Z11-16:OH. Z11-16:OH elicited response with threshold significantly lower than Z11-16:Ac and the results indicated that these two compounds might have different olfactory receptors. Combination of these two compounds in different proportions was tested for the attraction to the male moths in the field, and Z11-16:Ac and Z11-16:OH in 9:1, 8:1 and 5:5 were found more potent than Z11-16:Ac used alone. Z9-14:Ac showed inhibitory effect when mixed with Z11-16:Ac and Z11-16:OH in the field test for attraction of the male moths. The results of laboratory investigations and field tests suggest that Z11-16:OH is the sex attractant or its component of the purple stem moths.

Key words *Sesamia inferens*—electroantennogram—sex pheromone—olfactory receptor